

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Biocompatibilidade de Dispositivos Médicos

Márcia Filipa Vaz Souto Lopes

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2017

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Biocompatibilidade de Dispositivos Médicos

Márcia Filipa Vaz Souto Lopes

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de
Farmácia**

Orientador: Professora Doutora Ana Francisca Bettencourt

2017

Resumo

A utilização de dispositivos médicos requer o contato de biomateriais com os tecidos e o organismo humano, o que desencadeia uma resposta biológica, sendo este um dos principais fatores que determina a biocompatibilidade de um material. Inicialmente a definição deste conceito exigia apenas que um biomaterial não desencadeasse efeitos adversos. Contudo, tem-se verificado que as características necessárias num biomaterial são bem mais do que a ausência de toxicidade.

A avaliação de biocompatibilidade está normalizada na ISO 10993 onde estão esquematizados os testes e ensaios exigidos de acordo com o tipo de dispositivo médico. No entanto, apesar desta normalização de processos, a evolução científica, tecnológica, aliada à descoberta de áreas como engenharia de tecidos, tem aumentado a percepção das limitações associadas ao conceito de biocompatibilidade e demonstrado a sua constante evolução ao longo dos tempos, tornando-se difícil compreender completamente todos os fenómenos envolvidos nestes processos.

Este é um conceito muito controverso por não se entender ainda por completo quais as suas fronteiras como, por exemplo, a distinção entre biocompatibilidade e toxicidade. Muitas questões continuam sem resposta pela incerteza das mesmas por parte da comunidade científica.

De futuro esperam-se novas alterações neste conceito que tem estado em constante evolução ao longo dos tempos, principalmente numa era de incremento na utilização de dispositivos médicos e na percepção das suas enormes potencialidades na área da saúde.

Palavras-chave: Dispositivo Médico; Biocompatibilidade; Reação adversa; Resposta biológica; ISO 10993; Biomaterial

Abstract

The use of medical devices requires the contact of biomaterials with tissues and the human body, which triggers a biological response, being this, one of the main factors that determine the biocompatibility of a material. Initially, the definition of this concept only required that a biomaterial did not trigger any adverse events. However, it has been found that the required characteristics in a biomaterial are much more than the absence of toxicity.

The biocompatibility assessment is standardized in ISO 10993 where the required tests, according to the type of medical device, are outlined. However, in spite of this normalization, scientific and technological evolution, coupled with the discovery of areas like tissue engineering, has increased the perception of the limitations associated with the concept of biocompatibility and demonstrated its constant evolution over time, becoming difficult to fully understand all the phenomena involved in biocompatibility.

This is a very controversial and uncertain concept, since its boundaries are not fully understood, such as the separation between biocompatibility and toxicity, or whether all biomaterials are biocompatible. Many of these questions remain unanswered due to their uncertainty by the scientific community.

In the future, new revolutions are expected in the concept that has been constantly evolving over time, especially in an era of increasing use of medical devices and the realization of their enormous potential, mainly in health.

Keywords: Medical Device; Biocompatibility; Adverse reaction; Biological response; ISO 10993; Biomaterial

Agradecimentos

Apesar da redação de uma monografia ser um processo individual existem inúmeras colaborações sem as quais todo este procedimento não seria exequível. Desta forma quero deixar algumas palavras de agradecimento às pessoas que me ajudaram na concretização desta monografia e que também me acompanharam ao longo destes cinco anos.

Em primeiro lugar queria agradecer à Professora Doutora Ana Francisca Bettencourt pela constante disponibilidade, interesse, apoio e colaboração na resolução de dúvidas que surgiram ao longo da realização desta monografia.

Em segundo lugar não posso deixar de agradecer à minha amiga e colega Joana Meira que esteve ao meu lado diariamente ao longo destes anos. Uma amiga incansável e uma enorme fonte de companheirismo e amizade que tonaram estes 5 anos mais fáceis.

À Inês Pereira agradeço por todo o carinho, dedicação, amizade e apoio incondicional. Obrigada pelo tempo dispensado, por toda a ajuda na realização desta monografia e por te teres tornado ao longo destes 5 anos uma amiga indispensável.

Por fim, quero deixar um agradecimento especial aos meus pais por constantemente me ajudarem a superar todo e qualquer obstáculo que surja. Obrigada por me terem acompanhado nesta caminhada, que agora termina, e por toda a paciência e constante apoio demonstrados ao longo de todos estes anos.

Índice:

1	Introdução	9
2	Objetivos	12
3	Materiais e Métodos	13
4	Resultados	14
4.1	Biomateriais	14
4.1.1	As diferentes definições	15
4.2	Biocompatibilidade	16
4.2.1	A evolução deste conceito	16
4.2.2	Fatores importantes em biocompatibilidade	19
4.2.3	A controvérsia associada ao conceito	21
4.3	Resposta biológica associada à implantação de um dispositivo médico ..	22
4.3.1	Interação Sangue – Material	23
4.3.2	Inflamação Aguda	24
4.3.3	Inflamação Crónica	24
4.3.4	Resposta ao corpo estranho com formação de tecido granulamatoso e cápsula fibrosa	25
4.3.5	Imunidade e biocompatibilidade	26
4.4	Avaliação da biocompatibilidade de biomateriais	27
4.4.1	Norma ISO 10993	27
4.4.2	Testes de citotoxicidade	32
4.4.3	Testes de sensibilização	35
4.4.4	Testes de irritação/reativação intracutânea	35
5	Discussão – Apresentação de casos práticos	37
5.1	<i>Metallic Glasses</i> (MGs)	37
5.1.1	Teste de viabilidade celular	39
5.1.2	Testes in vivo - Implantação	40
5.1.3	Testes de Histologia e <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)	40
5.1.4	Resultados	40
5.2	Microesferas de Alginato-Ácido Hialurónico	43
5.2.1	Teste de libertação celular	44
5.2.2	Teste de viabilidade celular	45
5.2.3	Testes in vivo - Implantação	45
5.2.4	Resultados	46
6	Perspetivas futuras	47
7	Conclusão	49
8	Referências Bibliográficas	51

Índice de Figuras:

Figura 1 - Diferentes aplicações de biomateriais	15
Figura 2 - Variação de células na resposta inflamatória de acordo com a evolução temporal	23
Figura 3 - Progressão da reação inflamatória em função do tempo decorrido após a implantação	27
Figura 4 - Capítulos da ISO 10993	29
Figura 5 - Matriz de testes de acordo com as normas	30
Figura 6 - Fluxograma de utilização da ISO 10993-1	32
Figura 7 - Teste de contato direto	33
Figura 8 - Teste de contato indireto	33
Figura 9 - Teste de extratos	34
Figura 10 - Esquema experimental de testes de citotoxicidade e in vivo	39
Figura 11 - Propriedades mecânicas e de corrosão dos MGs em estudo e respectivos padrões	41

Índice de Tabelas:

Tabela 1 – Critérios determinantes na avaliação do risco associado a dispositivos médicos.....	10
Tabela 2 - Classificação de dispositivos médicos (DM) de acordo com a sua classe de risco.....	10
Tabela 3 - Características dos materiais que podem influenciar a resposta no hospedeiro.....	20
Tabela 4 - Sequência de respostas face à implantação de dispositivos	22

1 Introdução

Os dispositivos médicos são importantes instrumentos de saúde, que englobam uma variedade de produtos, aparelhos, equipamentos, *softwares* e materiais utilizados, isoladamente ou em conjunto, para fins comuns aos dos medicamentos tais como prevenir, diagnosticar, tratar ou monitorizar uma doença, lesão ou deficiência. No entanto, estes dispositivos devem cumprir a sua função e atingir os seus fins através de mecanismos que não se traduzam em ações farmacológicas, metabólicas ou imunológicas, sendo esta a característica que os distingue dos medicamentos. (1,2)

Contrariamente ao que tem acontecido no mercado do medicamento, no qual a aprovação de novas moléculas tem diminuído, os dispositivos médicos encontram-se numa fase de expansão, da qual têm resultado inúmeras tecnologias inovadoras. Este setor é altamente inovador e tem um valor de mercado de cerca de 95 mil milhões de euros. (2)

Os dispositivos médicos estão divididos em quatro classes de risco:

- I – baixo risco;
- IIa – médio risco;
- IIb – médio risco;
- III – alto risco. (3)

Esta classificação é determinada tendo como base os seguintes critérios:

1. Duração de contato com o corpo humano;
2. Invasibilidade do corpo humano;
3. Anatomia afetada pela utilização;
4. Potenciais riscos decorrentes do fabrico. (1,3,4)

Na Tabela 1 observa-se que, com o aumento da invasibilidade e da duração de exposição, o risco associado ao dispositivo aumenta. (4)

Tabela 1 – Critérios determinantes na avaliação do risco associado a dispositivos médicos

Duração \ Invasibilidade	Temporário	Curta Duração	Longa duração
Implantáveis absorvíveis			
Implantáveis			
Cirurgicamente invasivos			
Invasivos			
Não invasivos			

Adaptado de: Cardoso S. Classificação e Processo Regulamentar de Dispositivos Médicos nos ensaios Intervencionais

Na Tabela 2 pode observar-se exemplos de dispositivos médicos organizados segunda a sua classe de risco, atribuída através dos critérios acima mencionados. (2)

Tabela 2 - Classificação de dispositivos médicos (DM) de acordo com a sua classe de risco

Categoria do DM	Classe	Exemplos
DM baixo risco	I	Ligaduras, pulsos, canadianas, meias de compressão, cadeiras de rodas, etc
	I estéril	Luvas de exame, pensos estéreis, etc
	I função medição	Medidor de tensão arterial, termómetro digital, seringas graduadas sem agulhas, etc
DM médio risco	Ila	Seringas com agulhas, agulhas, lancetas, luvas cirúrgicas, equipamentos de ressonância, etc
	Ilb	Sacos de sangue, incubadoras, soluções oftálmicas de conforto, material de penso, etc
DM alto risco	III	Válvulas cardíacas, <i>stents</i> , próteses de anca, DIU, implantes mamárias, etc

Fonte: Freitas ASB. Dispositivos Médicos: Enquadramento Regulamentar e Documentação Técnica

Podem definir-se diferentes categorias de dispositivos médicos consoante a sua aplicação e função, dentro destas podemos destacar:

- os dispositivos médicos ativos - dispositivos médicos cujo funcionamento depende de uma fonte de energia elétrica, ou outra não gerada diretamente pelo corpo humano ou pela gravidade, e que atua por conversão dessa energia;
- dispositivos médicos de uso clínico - destinados pelo seu fabricante a serem utilizados uma única vez num único doente;
- dispositivos médicos implantáveis - destinados a ser introduzidos totalmente no corpo humano, ou a substituir uma superfície epitelial ou a superfície do olho através de uma intervenção cirúrgica e que se destinem a ser conservados no local após a intervenção. (1)

No caso de dispositivos médicos invasivos, implantáveis, ou que simplesmente entrem em contato com pele ou mucosas, os conceitos de biomaterial e biocompatibilidade tornam-se relevantes, pois é necessário assegurar que o contato entre o dispositivo e os tecidos não desencadeia uma reação adversa. É com base na necessidade dos dispositivos médicos integrarem e interagirem com o organismo humano que surge o conceito de biomateriais e de biocompatibilidade. (1–4)

2 Objetivos

O objetivo desta monografia passa por identificar, descrever e analisar artigos científicos referentes à temática da biocompatibilidade em dispositivos médicos, de forma a compreender que fatores devem ser avaliados aquando o desenvolvimento de um dispositivo médico. Assim, pretende-se responder a questões como: O que é a biocompatibilidade? Como pode ser avaliada? Que critérios devem ser cumpridos para que se possa considerar um dispositivo biocompatível?

3 Materiais e Métodos

Para a redação da presente monografia realizou-se uma pesquisa inicial acerca dos conceitos teóricos envolvidos: definições de conceitos, caracterização de alguns termos e esclarecimento de normas e diretrizes.

Todos os conteúdos científicos foram obtidos através de publicações científicas disponibilizadas pelo motor de busca *Google Scholar* (<https://scholar.google.pt/>) e as bases de dados *PubMed* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) e *ScienceDirect* (<http://www.sciencedirect.com/>), sendo estas fontes fidedignas e atualizadas de modo a garantir a qualidade e viabilidade da informação. Para a pesquisa na base de dados *PubMed* foi utilizada a ferramenta *Pubmed Advanced* e foram introduzidos três *MeshTerms*: “Evaluation”, “Biocompatibility”, “Cytotoxicity”

No que diz respeito à definição de conceitos e fundamentos teóricos a pesquisa não foi restringida a determinado período de tempo. Pelo contrário, para apresentação dos estudos de casos práticos, os artigos selecionados e apresentados datam do presente ano 2017.

Durante a pesquisa, de forma a restringir os resultados aos conteúdos pretendidos, foram utilizados alguns descritores como “evaluation of biocompatibility”; “biocompatibility tests”; “biomaterials”; “characterization of biomaterials”, entre outros.

4 Resultados

4.1 Biomateriais

A utilização de biomateriais não é uma realidade recente. No entanto, nas últimas décadas, houve um crescimento acentuado na utilização destes graças à evolução nas áreas de saúde e engenharia biomédica. Desde então que o conceito de biomaterial tem sido definido de diferentes formas por diferentes autores. (5)

Um biomaterial pode ser definido como uma substância natural ou sintética que interage com um tecido vivo durante um período de tempo significativo, sendo utilizado para diagnosticar, tratar, melhorar ou substituir um tecido, órgão ou função do corpo humano. (6–9)

Tendo em conta as suas aplicações, os biomateriais estão geralmente em contato com tecidos vivos ou fluidos corporais, resultando na formação de uma interface entre substâncias vivas e não-vivas. Por este motivo, requerem a utilização de materiais que apresentem determinadas características e que permitam a sua aplicação. (10)

Existem algumas propriedades que influenciam o desempenho e a existência de um biomaterial no organismo, sendo as mais importantes: químicas, físicas, mecânicas e biológicas. As propriedades químicas dizem respeito à composição, às ligações e estruturas atômicas do respetivo material; as físicas relacionam-se com o estado físico, a densidade e as diferentes porosidades; as mecânicas tratam da resistência e dureza dos materiais; já as propriedades biológicas são relativas ao comportamento biológico do material. Todas estas características não dependem de um só fator, mas sim de vários, os quais podem alterar por completo a avaliação de determinada propriedade do material. Por este motivo, a compreensão dos materiais requer um conhecimento aprofundado acerca da sua estrutura e do seu processamento, para que a sua aplicação seja benéfica para o hospedeiro e desta forma os biomateriais sejam capazes de desempenhar a sua função em segurança. (11)

Os biomateriais podem ser agrupados em quatro categorias: polímeros, metais, cerâmicas e compósitos, sendo que os polímeros podem ser naturais, como o colagénio ou a celulose, ou sintéticos, como o silicone ou o PMMA (polimetilmetacrilato). Os metais são utilizados principalmente em aplicações de odontologia e ortopedia, sendo os mais utilizados, o titânio, os aços inoxidáveis e as ligas metálicas. Por sua vez, a cerâmica, é maioritariamente utilizada na reparação,

regeneração e suporte de tecidos duros, especialmente quando não existe carga envolvida, como revestimentos de implantes metálicos, sendo os mais utilizados os fosfatos de cálcio e alumina. No que diz respeito aos compósitos o polímero-cerâmica representa a maioria. (11)

Habitualmente, estes materiais, são utilizados no fabrico de vários dispositivos médicos com diferentes aplicações possíveis, que estão ilustradas na Figura 1. (6)

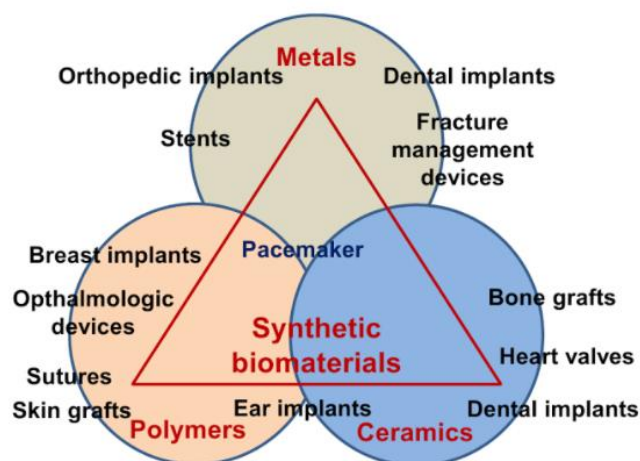


Figura 1 - Diferentes aplicações de biomateriais

Fonte: Lemons JE, Schoen FJ, Hoffman AS, Ratner BD. Biomaterials Science: An introduction to materials in medicine. Academic Press. London; 1996

4.1.1 As diferentes definições

O conceito de biomaterial pode ser dividido em várias gerações que foram acompanhando a evolução da ciência e da tecnologia. (5)

A primeira geração de biomateriais tinha simplesmente de satisfazer certas propriedades físicas que garantissem que o hospedeiro não desenvolvia nenhum tipo de reação adversa. Ou seja, procuravam-se os materiais bioinertes que não tivessem qualquer interação com o organismo. (11)

A segunda geração englobava os materiais bioativos. De acordo com esta definição, os biomateriais podiam desencadear uma ação ou reação em ambiente fisiológico, desde que controladas. (11,12)

Nos anos noventa, surgiu a terceira geração de biomateriais que persiste até aos dias de hoje. Nesta estão inclusos materiais capazes de estimular respostas celulares específicas e de desencadear a libertação controlada de estímulos bioquímicos, podendo por isso ser designados como bio-interativos. (11,12)

Apesar das diferenças que se foram verificando ao longo dos anos, uma característica que se mantém desde o início, por ser uma propriedade intrínseca e necessária para a utilização de biomateriais, é a biocompatibilidade. Esta é a característica que melhor distingue um biomaterial dos restantes, por descrever a sua capacidade de estar em contato com tecidos vivos sem causar dano. (13)

O biomaterial perfeito e a sua definição exata ainda não existem uma vez que se trata de uma temática muito pouco consensual. No entanto, cada vez mais esta avaliação tem por base o conceito de biocompatibilidade. (13)

Tendo em conta que biocompatibilidade é uma característica necessária, inerente e sempre associada a biomateriais torna-se complicado dissociar estes dois conceitos. Esta realidade pode ser verificada através da evolução das diferentes gerações de biomateriais que foram acompanhadas de uma nova definição de biocompatibilidade. (12,13)

Segundo todas elas pode afirmar-se que os biomateriais são biocompatíveis e que esta característica é indispensável para a realização da função de cada dispositivo médico, surgindo estes dois termos sempre em associação. (14)

4.2 Biocompatibilidade

4.2.1 A evolução deste conceito

O conceito de biocompatibilidade surge da curiosidade existente em torno das diferentes formas de um biomaterial interagir com o tecido humano. Está muitas vezes associado a dispositivos médicos implantáveis, que permanecem em contato com os tecidos vivos por um período de tempo considerável. No entanto, qualquer biomaterial que esteja em contato com sistemas biológicos deve satisfazer esta condição de forma a não desencadear um evento adverso, seja ele local ou sistémico. (13)

Quando se refere à biocompatibilidade de um biomaterial surgem algumas questões:

- Como podemos avaliar a biocompatibilidade de um biomaterial?
- Como se pode quantificar a biocompatibilidade?
- Será biocompatibilidade o mesmo que a ausência de uma reação adversa ou tóxica para o organismo? (15)

Estas questões tornam-se motivo de discórdia e sem uma resposta consensual dentro do seu âmbito de estudo. Biocompatibilidade surge como um conceito bastante utilizado na ciência dos biomateriais, mas com significado ainda incerto, assim como

os mecanismos envolvidos. Desta forma podemos considerar que todo este conceito está em constante mutação, acompanhando a evolução do conhecimento na área. Por este motivo, a primeira definição de biocompatibilidade que surgiu não é igual à utilizada hoje em dia. (13)

O uso de biomateriais tem uma longa história, as suas aplicações na correção de inúmeros problemas de saúde humana remontam à antiguidade, sendo que a sua utilização é caracterizada desde sempre pela criatividade, inovação e resultados médicos positivos alcançados. Desde a civilização que a humanidade tem explorado diferentes maneiras possíveis de substituir ou melhorar funções normais do organismo humano através de materiais. Exemplo disso é o fato de existirem evidências arqueológicas que sugerem a utilização de conchas e linho pelos egípcios para substituir dentes e suturar feridas, acabando por criar os primeiros implantes dentários e suturas. (5,12)

A verdadeira revolução a nível de biomateriais iniciou-se no século XX com a introdução de materiais sintéticos que possibilitaram uma diminuição nos riscos que estavam associados à utilização de materiais naturais. Surgiu então o PMMA (polimetilmetacrilato), o acetato, o aço inoxidável e tantos outros que passaram a integrar dispositivos médicos com várias aplicações. (12)

Estes materiais eram selecionados através de uma combinação entre as suas propriedades físicas e a capacidade de não desencadear uma resposta tóxica no hospedeiro, procurando-se por isso os materiais bioinertes, o que reflecte a primeira geração de biomateriais e a primeira definição de biocompatibilidade. Desta forma, entre 1940 e 1980 considerava-se que o melhor desempenho a nível biológico era alcançado com materiais quimicamente inertes. O objetivo era a obtenção de materiais que pudessem substituir um tecido danificado, promovendo um suporte mecânico, com a mínima resposta biológica. (12)

Assim, a nova definição de biocompatibilidade, associada a esta geração de biomateriais, baseou-se em certos critérios, os quais tiveram origem em eventos adversos anteriormente ocorridos, como corrosão, degradação e a presença de contaminantes num material. Por estas razões a definição de biocompatibilidade passou a ser uma enumeração de características não permitidas num material: não tóxico, não trombogénico, não carcinogénico, não irritante, não imunogénico, entre outras. (13)

Em meados dos anos 70, surgiram ferramentas analíticas a nível da biologia molecular, como o RIA e ELISA que tornaram possível visualizar a interface material-

hospedeiro e analisá-la a nível molecular e celular. (12) Assim, surgiram três fatores que desencadearam uma nova avaliação desta posição relativamente ao conceito de biocompatibilidade. O primeiro foi o fato de se ter tornado óbvio que a resposta de cada indivíduo a certo material varia consoante o local de aplicação e a situação para que este é utilizado. O segundo fator diz respeito ao aumento do número de aplicações em que os dispositivos precisam de interagir com os tecidos, contrariamente ao que acontece com materiais inertes. O terceiro e último fator relaciona-se com a necessidade de degradação de alguns dispositivos, com o passar do tempo, de forma a não persistirem indefinidamente no corpo humano. (13)

Assim, em 1987, biocompatibilidade foi redefinida como a capacidade de um material desencadear no hospedeiro uma resposta apropriada e segura numa situação específica. Apesar de se tratar de um avanço, esta nova designação não alterou muito o conhecimento acerca de biocompatibilidade por não levar a uma melhor compreensão dos mecanismos específicos envolvidos. (13)

A chave para se entender este conceito é identificar e perceber o porquê dos mecanismos químicos, bioquímicos, fisiológicos e físicos, ocorrerem aquando do contato entre os biomateriais e os tecidos humanos e quais as consequências dessas interações. Desta forma, para definir biocompatibilidade é necessário ter em conta as suas duas principais características: biofuncionalidade – que diz respeito à capacidade do material desempenhar a sua função – e biossegurança – referente à capacidade do material não desencadear uma resposta adversa no hospedeiro. Tendo isto em consideração, atualmente, define-se biocompatibilidade como a capacidade de um dispositivo desempenhar a sua função, com integração nos tecidos do hospedeiro e sem provocar quaisquer efeitos indesejáveis, sistémicos ou locais. (13)

Como referido anteriormente estes dois conceitos (biomateriais e biocompatibilidade) surgem associados e sempre evoluíram lado a lado, uma vez que biocompatibilidade é uma propriedade intrínseca e necessária num biomaterial. É por isso complicado compreender as fronteiras entre estes dois conceitos, o que levanta algumas questões: Apesar de biocompatibilidade ser uma característica necessária num biomaterial, serão todos os biomateriais biocompatíveis? Uma vez que biocompatibilidade é definida com base nos conceitos de biossegurança e biofuncionalidade, caso um biomaterial seja seguro, mas não desempenhe a sua função, não será considerado biocompatível, ou simplesmente não será biofuncional? (5,12,13)

4.2.2 Fatores importantes em biocompatibilidade

Estando perante um conceito de difícil definição é necessário entender todos os fatores envolvidos nestes mecanismos. Por esta razão e para que seja possível facilitar a compreensão do conceito, pode dizer-se que existem vários medidores de biocompatibilidade, ou seja, fatores e características que influenciam a mesma, para além do próprio material. (13)

O sucesso da implantação de um biomaterial depende maioritariamente de três destes fatores: das propriedades e da biocompatibilidade do implante, do estado de saúde do doente e da competência do cirurgião que faz a intervenção e monitoriza todo o processo. (7,16)

No caso de dispositivos implantáveis as características individuais como idade, sexo, estado geral de saúde, co-morbilidades, mobilidade física, estilo de vida, são fatores bastante relevantes que desencadeiam uma grande variedade de pessoa para pessoa. Também o design do dispositivo, a interação física deste com o organismo, a presença de microorganismos ou endotoxinas apresentam grande relevância. (13)

Na Tabela 3 estão representadas as principais características dos materiais que podem influenciar a resposta no hospedeiro. (13)

Tabela 3 - Características dos materiais que podem influenciar a resposta no hospedeiro

Composição do material a granel, micro ou nano estrutura - morfologia
Cristalinidade
Conteúdo de água, balanço hifrobico-hidrofílico
Micro, macro, nano – porosidade
Composição química da superfície, gradientes químicos
Topografia de superfície
Energia de superfície
Propriedades elétricas/eletrônicas de superfície
Parâmetros de corrosão, perfil de libertação de iões, toxicidade de iões metálicos
Lixiviações, aditivos, catalisadores, contaminantes e sua toxicidade
Perfil de dissolução/degradação, toxicidade do produto de degradação
Perfil de degradação, forma do produto de degradação e toxicidade

Fonte: Williams DF. On the mechanisms of biocompatibility. Biomaterials. 2008;29(20):2941–53. (adaptado)

Juntando todas estas características dos materiais aos diversos fatores individuais, que diferem de pessoa para pessoa, consegue perceber-se o porquê do conceito de biocompatibilidade ser difícil de definir. Existem muitas variáveis envolvidas pois são desencadeadas diferentes respostas, através de vários mecanismos, que resultam da interação dos materiais com a singularidade de cada pessoa. (13)

4.2.3 A controvérsia associada ao conceito

Quando se fala de biomateriais surgem, inevitavelmente, algumas barreiras conceituais que hoje em dia já começam a ser ultrapassadas. (14)

A nível de saúde o conceito de biomaterial e as suas fronteiras também levantam muitas questões e até alguma discórdia. O antigo conceito era definido como um material usado no fabrico de objetos com aplicação clínica. No entanto, hoje em dia é possível afirmar-se que, um órgão humano transplantado, caso tenha sido manipulado para alterar uma das suas características, por exemplo a esterilidade, poderá ser considerado um biomaterial. Neste caso, torna-se possível considerar um órgão ou tecido vivo como um biomaterial, o que mais uma vez levanta algumas questões. (14) No caso de um tecido animal ser alterado para que a sua introdução no organismo humano seja possível e desencadeie a replicação com as células do próprio hospedeiro, será um biomaterial? Respondendo a esta questão, alguns artigos de revisão, consideram que este tecido é um biomaterial, uma vez que foi alterado de forma a desempenhar a função para que foi proposto. É neste ponto que surgem os motivos de discórdia, pois torna-se complexo compreender quais os limites entre um biomaterial e um transplante ou enxerto. Esta fronteira tem de evoluir e ser discutida para que se possa chegar a um consenso e uma definição mais objetiva de biomaterial. (14,15)

Outra questão a considerar é o fato da mais recente definição de biocompatibilidade refletir a existência de biomateriais de segunda e terceira geração, que apresentam um certo nível de atividade. Neste caso, é preciso definir quais as barreiras farmacológicas e perceber com clareza o que distingue um biomaterial de um produto com atividade farmacológica. Podemos facilmente esclarecer este ponto utilizando como exemplo um sistema de libertação de fármacos, como uma microcápsula de insulina, em que a microcápsula é o dispositivo médico, o material constituinte da cápsula é o biomaterial e a insulina é o fármaco. (15)

Todas estas dúvidas têm consequências associadas e é cada vez mais necessário resolvê-las, para que questões regulamentares, legais e económicas não sejam um impedimento ao desenvolvimento de novos dispositivos médicos. (14)

4.3 Resposta biológica associada à implantação de um dispositivo médico

Apesar da utilização de dispositivos médicos ser bastante vantajosa na melhoria da qualidade de vida e no aumento da longevidade, existe um grande fator de risco que surge associado: a reação do corpo humano a estes dispositivos. (15,17)

A resposta do hospedeiro à aplicação de dispositivos médicos determina, em última análise, o seu sucesso ou falha, sendo a inflamação, a cicatrização de feridas e a FBR (*foreign body reaction*) parte desta reação do tecido. No caso de um dispositivo médico implantável, em que a sua introdução *in vivo* requer uma intervenção cirúrgica, ocorre o desenvolvimento de uma lesão no tecido ou órgãos envolvidos. São estas lesões que desencadeiam uma resposta inflamatória, que é despoletada como forma de proteção e manutenção da homeostase do organismo e que depende de vários fatores, tais como: extensão da lesão, perda de estruturas por parte da membrana, interações entre o sangue e o material, formação de uma matriz provisória e extensão da necrose celular. Na Tabela 4 estão sequenciados todos estes processos de cicatrização do tecido lesado. (15,16,18)

Tabela 4 - Sequência de respostas face à implantação de dispositivos

Lesão
Interações Sangue – Material
Formação de matriz provisória
Inflamação aguda
Inflamação crónica
Tecido granulomatoso
FBR (<i>Foreign Body Reaction</i>)
Fibrose/Desenvolvimento de tecido fibroso

Adaptado de: Badylak SF. Host response to biomaterials : the impact of host response on biomaterial selection London; 2015

Dependendo da fase da reação inflamatória em que o processo se encontra, o tipo de célula que predomina será diferente, uma vez que estas dependem do tempo da lesão, como mostra a Figura 2. (15)

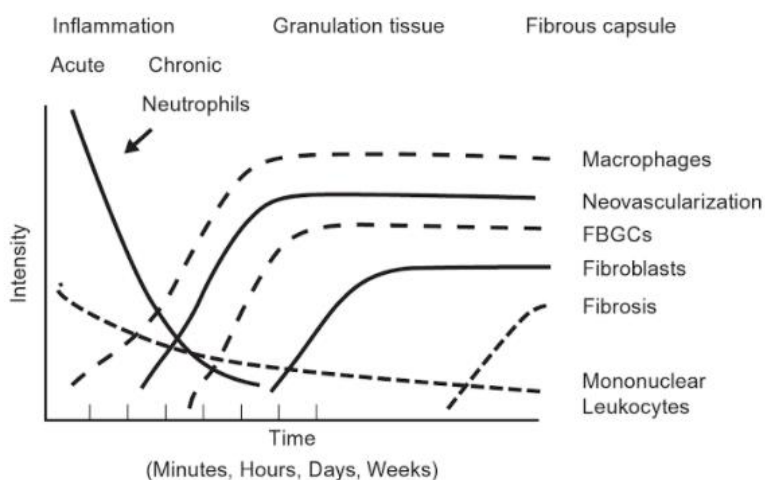


Figura 2 - Variação de células na resposta inflamatória de acordo com a evolução temporal

Fonte: Badylak SF. Host response to biomaterials : the impact of host response on biomaterial selection. London; 2015

A intensidade e/ou tempo de duração da reação inflamatória podem ser utilizados para caracterizar a biocompatibilidade do dispositivo. Geralmente, esta é descrita com base na observação das respostas inflamatórias agudas e crônicas, da formação da cápsula fibrosa e da resposta ao corpo estranho (FBR), desencadeadas pela implantação do dispositivo. Desta forma, a avaliação histológica do tecido em função do tempo tem sido um método comumente utilizado na avaliação de biocompatibilidade. (15,19)

4.3.1 Interação Sangue – Material

A interação sangue-material e a resposta inflamatória estão intimamente ligadas. De fato, as respostas iniciais à lesão envolvem essencialmente o sangue e os vasos sanguíneos, isto porque, independentemente do órgão ou tecido afetados, esta resposta inicial é ativada pela lesão de tecido conjuntivo vascularizado. (19)

Imediatamente após a lesão ocorrem mudanças no fluxo, calibre e permeabilidade dos vasos sanguíneos. Fluido, proteínas e células sanguíneas saem do sistema vascular para o tecido danificado num processo chamado de exsudação. (15)

Após o procedimento de implante, ocorre imediatamente o desenvolvimento de uma matriz provisória nesse local. Esta matriz consiste em fibrina que foi produzida devido à ativação da cascata de coagulação e de mediadores inflamatórios. Estes eventos ocorrem nas etapas iniciais, minutos a horas após a implantação do dispositivo médico. A partir desta matriz provisória são libertados componentes que iniciam a resolução e os processos de reorganização e reparação, como o recrutamento de células inflamatórias e de fibroblastos. (15)

4.3.2 Inflamação Aguda

A inflamação aguda é relativamente curta, com uma duração de minutos a dias, dependendo da extensão da lesão. As principais características de inflamação aguda são a exsudação de proteínas e de plasma que levam à formação de edema e à emigração de leucócitos. (15,19,20)

Inicialmente os vasos dilatam, levando ao aumento de sangue no local da lesão e posteriormente à formação de um coágulo composto essencialmente por fibrina, como tentativa de diminuir o fluxo sanguíneo. De seguida, há um aumento da permeabilidade dos vasos à água e sais resultando na formação de um edema, como tentativa de reduzir o número de moléculas nocivas que constituem o elemento estranho. São recrutadas ao local da lesão algumas células, principalmente neutrófilos e monócitos que se diferenciam em macrófagos, células responsáveis pela fagocitose tendo em vista a remoção do material estranho. Habitualmente os biomateriais não são fagocitados por macrófagos ou neutrófilos devido à disparidade de tamanhos. A superfície do biomaterial é superior ao tamanho da célula, contudo certos processos de fagocitose podem acabar por ocorrer. Há uma libertação extracelular de produtos dos leucócitos como tentativa de degradação do objeto estranho. (15,19)

4.3.3 Inflamação Crónica

A inflamação crónica é histologicamente menos uniforme do que a inflamação aguda. Geralmente é caracterizada pela presença de macrófagos, monócitos e linfócitos, com proliferação de vasos sanguíneos e tecido conjuntivo. (15,19)

Na fase aguda há formação de um coágulo de fibrina que nesta fase da reação é convertido em tecido granulamatoso altamente vascularizado. Surgem também inúmeros fatores de crescimento de forma a forma que seja possível a criação de tecido, regeneração de células epiteliais e formação de novos vasos sanguíneos a

partir dos pré-existentes, processo conhecido como angiogénese, essencial no processo de cicatrização devido ao fornecimento de nutrientes. (19,21)

Depois das respostas inflamatórias aguda e crónica surge a última fase de resposta em que se cria uma interface entre o biomaterial e os tecidos. Esta é a fase da inflamação mais relevante no processo de biocompatibilidade. Após a formação desta interface, o dispositivo fica restrito àquele local de implantação ficando impedido de contactar com os restantes tecidos envolventes e de desencadear toda esta resposta inflamatória novamente, tornando-se assim biocompatível. (19,21)

4.3.4 Resposta ao corpo estranho com formação de tecido granulamatoso e cápsula fibrosa

Um dia após a implantação inicia-se o processo de cura em que ocorre a formação de tecido granulomatoso, marcando o início da resolução da inflamação. Dependendo da extensão da lesão, este tecido pode demorar entre 3 a 5 dias até surgir. (15,19,21)

Nesta etapa os fibroblastos proliferam tornando-se ativos na síntese primeiramente de proteoglicanos, que surgem maioritariamente nas fases iniciais, e depois de colagénio, que surge mais tarde e se torna predominante, acabando por formar a cápsula fibrosa. (15,19,21)

Neste processo final há a criação de uma estrutura vascular e da cápsula de colagénio à volta do dispositivo, usualmente com uma espessura de 50 a 200 mm. Esta cápsula fibrosa limita o dispositivo, impedindo-o de contactar com os tecidos circundantes e desencadear toda esta resposta biológica novamente. (21)

O processo é normalmente controlado pela capacidade proliferativa das células do tecido ou órgão afetados, pela extensão da lesão e pela persistência da estrutura no local do implante. Quanto à capacidade de proliferação das células podemos classificá-las em três tipos: lábeis, estáveis (ou em expansão) e células permanentes (ou estáticas). As células lábeis proliferam por todo o seu tempo de vida, as estáveis mantêm essa capacidade, mas normalmente não se replicam, e as permanentes não se podem reproduzir após o nascimento. A reparação perfeita ocorre, teoricamente, em tecidos onde estão presentes células estáveis e lábeis, enquanto que tecidos com células permanentes dão origem à formação de cápsula fibrosa, com um nível mínimo de reconstituição da arquitetura original do tecido ou órgão afetado. (15,19)

Os órgãos que são constituídos por este tipo de células estáticas são por exemplo células nervosas, músculo esquelético e músculo cardíaco, e geralmente levam a situações de fibrose. Os tecidos compostos por células com capacidade proliferativa são por exemplo o rim, fígado e pâncreas, músculo liso, entre outros, que podem terminar nesta fase de fibrose, embora, geralmente seja possível a reconstituição da arquitetura normal do tecido ou órgão. (15,19)

4.3.5 Imunidade e biocompatibilidade

Apesar de todos os avanços significativos que têm sido alcançados na compreensão de todo o mecanismo envolvido na resposta inflamatória, que ocorre após a implantação de dispositivos médicos, ainda existem muitos desafios que limitam a projeção e aplicação clínica destes biomateriais. O desconhecimento é ainda uma preocupação significativa e um grande obstáculo. Apesar de já se realizarem estudos em animais, que são uma grande fonte de conhecimento e informação, a avaliação da resposta imunológica é especialmente desafiante tendo em conta a natureza única dos dispositivos médicos e o fato do aparecimento de uma resposta ser tardio. As diferenças nas respostas imunológicas entre animais e humanos proporcionam uma complexidade adicional a esta questão. São estes os fatos que limitam a definição de biocompatibilidade e que, deste modo, dificultam a criação e utilização de biomateriais. (15)

Sabe-se, no entanto, que a resposta *in vivo* à implantação de biomateriais sintéticos (isentos de lixiviáveis endotoxinas, ou seja, que satisfazem a condição de biocompatibilidade) é geralmente descrita como uma reação inflamatória leve. (15)

Na Figura 3 pode observar-se uma reação inflamatória que terminou com o desenvolvimento de uma fina cápsula fibrosa que rodeia as células presentes na superfície do biomaterial e que lá permanece durante o tempo de vida do implante. Pode por isso concluir-se que, três semanas após a implantação, o local torna-se inativo, não havendo dados que mostrem o desenvolvimento de uma resposta adversa, local ou sistêmica, ativa ou progressiva. (15)

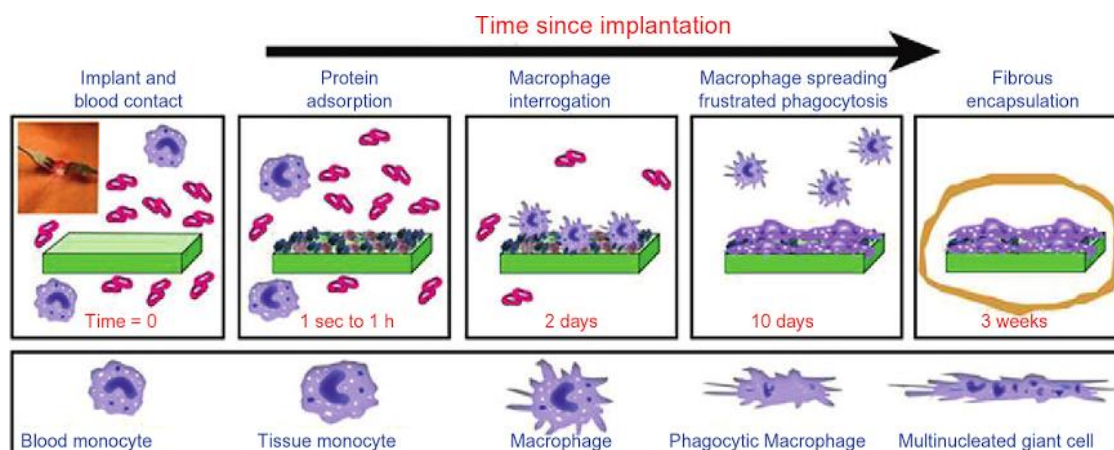


Figura 3 - Progressão da reação inflamatória em função do tempo decorrido após a implantação

Fonte: Badylak SF. Host response to biomaterials : the impact of host response on biomaterial selection. London; 2015

Assim, pode dizer-se que a resposta ao corpo estranho (FBR) que desencadeia a formação de uma cápsula fibrosa em torno do implante é hoje considerada como um indicador de biocompatibilidade. (15)

4.4 Avaliação da biocompatibilidade de biomateriais

4.4.1 Norma ISO 10993

A biocompatibilidade de um dispositivo é imprescindível para que a sua utilização clínica tenha o máximo de segurança associada, sendo por isso necessário assegurar e comprovar esta característica num dispositivo. Estas garantias são conseguidas através da ISO 10993, uma Norma Internacional que descreve uma orientação para testes de biocompatibilidade. (9,16,22)

Desde 14 de Junho de 1998 que todos os dispositivos médicos comercializados na UE devem cumprir esta norma. (22) O seu objetivo passa por assegurar a proteção dos seres humanos contra potenciais riscos biológicos decorrentes da sua utilização. Trata-se de um documento de orientação para a avaliação biológica de dispositivos médicos que, através da revisão e avaliação de dados existentes, e da seleção de testes adicionais, quando necessário, permite uma avaliação completa das respostas biológicas a cada dispositivo médico. Através da ISO 10993 os efeitos dos dispositivos médicos nos tecidos podem ser determinados, de forma geral. Assim é possível fazer-se uma avaliação de segurança biológica e desta forma classificar-se os dispositivos médicos. (23,20)

Estes testes biológicos baseiam-se, entre outras coisas, em testes *in vitro*, *ex vivo* e em modelos animais (*in vivo*), de forma a que se consiga antecipar o comportamento do dispositivo quando este entra em contato com o organismo humano. Apesar disso, estes testes não podem ser totalmente conclusivos, uma vez que as reações de cada tecido podem diferir de espécie para espécie já que dentro do organismo humano esta resposta varia somente com o local de implantação. Esta resposta pode também variar de indivíduo para indivíduo, o que leva a querer que certas pessoas possam desencadear reações adversas utilizando implantes já conhecidos e testados anteriormente. (23)

De uma perspectiva prática a avaliação *in vivo* de biocompatibilidade entre os dispositivos e os tecidos é utilizada para determinar se o dispositivo executa a sua função como pretendido - biofuncionalidade. Os testes *in vitro*, são mais utilizados para avaliar a segurança dos materiais utilizados de forma a perceber se estes não causam dano significativo no hospedeiro - biossegurança. Só quando estas duas condições se verificam é que o dispositivo pode ser considerado biocompatível, sendo importante simular o seu uso clínico para perceber se apresenta algum potencial perigo para o doente. Assim, a ISO 10993 apresenta uma abordagem sistemática para a avaliação destas situações. (19)

Esta norma encontra-se dividida em vários capítulos, os quais se podem observar na Figura 4, sendo que cada um corresponde a um determinado tipo de teste e a uma diferente avaliação de segurança. À medida que o conhecimento aumenta nesta área novos capítulos, novos testes e parâmetros podem surgir e passar a ser exigidos. (22)

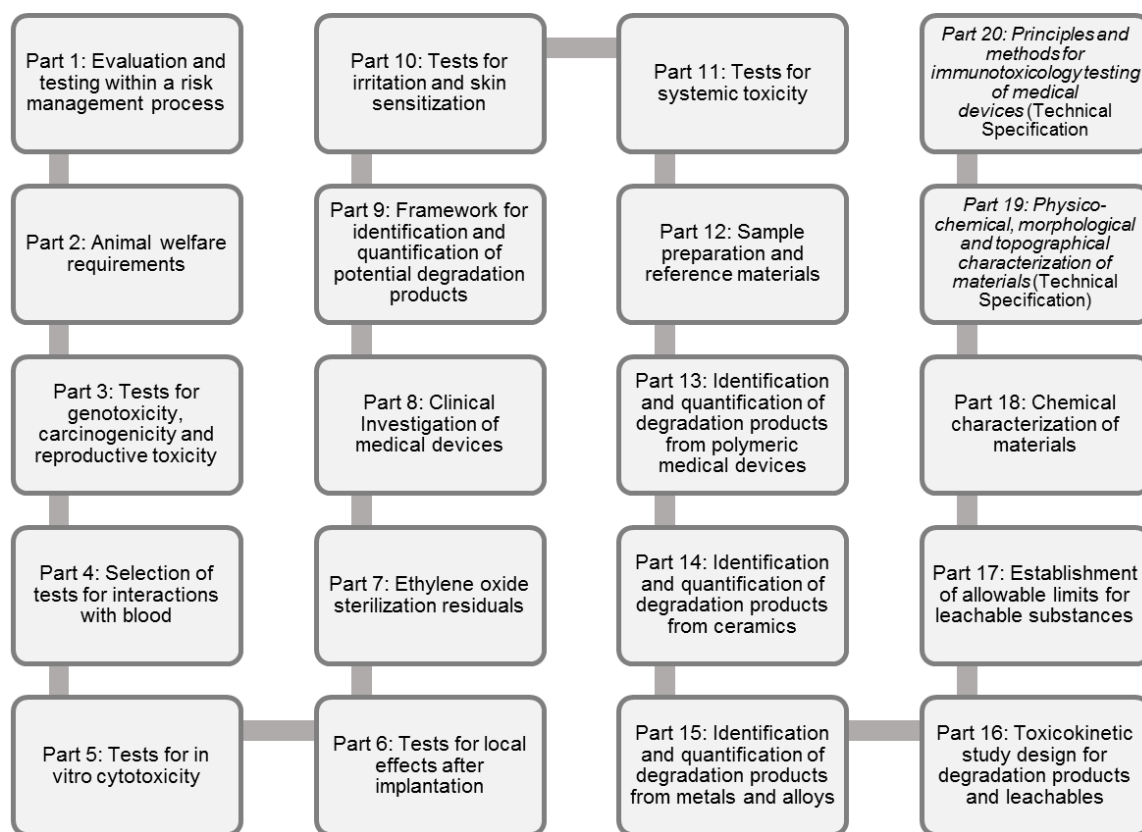


Figura 4 - Capítulos da ISO 10993

Adaptado de: ISO 10993-1:2009(en), Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing within a risk management process. 2009

A primeira parte da ISO, ISO 10993-1, descreve a categorização e esquematização dos testes de segurança. Na segunda parte, ISO 10993-2, podemos encontrar os requisitos de bem-estar dos animais, enquanto que na ISO 10993-12 estão descritos os métodos de preparação das amostras e os materiais de referência. A maioria das restantes secções da ISO descrevem os vários testes individuais. (24,20)

Na Figura 5 pode observar-se uma tabela, baseada na avaliação ISO 10993-1 que ilustra quais os testes que devem ser realizados consoante o tipo de dispositivo e as suas características. Os testes utilizados na avaliação de biocompatibilidade de dispositivos médicos incluem procedimentos para citotoxicidade, sensibilização cutânea, irritação dérmica e reatividade intracutânea, toxicidade sistêmica aguda, toxicidade subcrônica, mutagenicidade, implantação, hemocompatibilidade, toxicidade crônica e carcinogenicidade. (22,24,18)

Device Categories			Biological Effect									
Body Contact		Contact Duration A = Limited (<24 Hours) B = Prolonged (24 Hours - 30 Days) C = Permanent (>30 Days)	Cytotoxicity	Sensitization	Irritation/Intracutaneous	Acute Systemic Toxicity	Subchronic Toxicity (Subacute toxicity)	Genotoxicity	Implantation	Hemocompatibility	Chronic Toxicity	Carcinogenicity
Surface Devices	Skin	A	x	x	x							
		B	x	x	x							
		C	x	x	x							
	Mucosal Membrane	A	x	x	x							
		B	x	x	x	o	o		o			
		C	x	x	x	o	x	x	o		o	
	Breached or Compromised Surfaces	A	x	x	x	o						
		B	x	x	x	o	o		o			
		C	x	x	x	o	x	x	o		o	
Externally Communicating Devices	Blood Path, Indirect	A	x	x	x	x				x		
		B	x	x	x	x	o			x		
		C	x	x	o	x	x	x	o	x	o	o
	Tissue/Bone/Dentin ¹	A	x	x	x	o						
		B	x	x	x	x	x	x	x			
		C	x	x	x	x	x	x	x			
	Circulating Blood	A	x	x	x	x		o ²		x		
		B	x	x	x	x	x	x	x	x		
		C	x	x	x	x	x	x	x	x	o	o
Implant Devices	Tissue/Bone	A	x	x	x	o						
		B	x	x	x	x	x	x	x			
		C	x	x	x	x	x	x	x		o	o
	Blood	A	x	x	x	x	x		x	x		
		B	x	x	x	x	x	x	x	x		
		C	x	x	x	x	x	x	x	x	o	o

X = Tests per ISO 10993-1

O = Additional tests that may be applicable in the U.S.

Note¹ - Tissue includes tissue fluid and subcutaneous spaces

Note² - For all devices used in extracorporeal circuits

To access a copy of this online, visit: www.namsa.com/bio or search "biocompatibility-matrix"

Figura 5 - Matriz de testes de acordo com as normas

Fonte: Goode J. Use of International Standard ISO 10993-1, "Biological evaluation of medical devices - Part 1: Evaluation and testing within a risk management process." Dep Heal Hum Serv Food Drug Adm. 2016

Como já foi referido a necessidade de avaliar um dispositivo médico de forma biológica depende do material utilizado, do contato corporal pretendido e da duração deste contato. Um dispositivo projetado para contato superficial, por tempo limitado, tem uma elevada probabilidade de ser considerado biocompatível, contrariamente a um dispositivo implantável de exposição permanente constituído pelo mesmo material.

A ISO 10993-1 divide os dispositivos médicos em três categorias principais: dispositivos de superfície, dispositivos de comunicação externa e dispositivos implantáveis. Cada uma destas é ainda dividida em subcategorias de acordo com o tipo de contato ao qual o hospedeiro será exposto. São ainda definidos três períodos de tempo diferentes: contato limitado (<24 horas), contato prolongado (24 horas a 30 dias) e contato permanente (>30 dias). (22,23,20)

Assim pode encontrar-se na ISO 10993-1 uma listagem dos testes que devem ser considerados para cada uma destas situações. (22,23) De acordo com estas características são exigidos determinado tipo de testes, sendo que os testes de citotoxicidade, sensibilização e de irritação/reativação intracutânea são comuns a todos os produtos e materiais, sendo por isso descritos mais à frente. (22,23)

O procedimento de utilização da ISO 10993-1 é ilustrado pelo fluxograma da Figura 6. Esta norma só pode ser aplicada a dispositivos que estejam direta ou indiretamente em contato com o corpo ou fluidos corporais. Se um dispositivo for submetido à ISO, o primeiro passo é caracterizar o material. Esta caracterização não necessita sempre de uma avaliação biológica. Isto é, caso haja dados suficientes que verifiquem que o dispositivo atende aos requisitos necessários não é necessário voltar a repetir os testes. Se o material e/ou o uso do dispositivo forem diferentes de qualquer dispositivo previamente avaliado e determinado como seguro, a avaliação biológica deve ser realizada. (22)

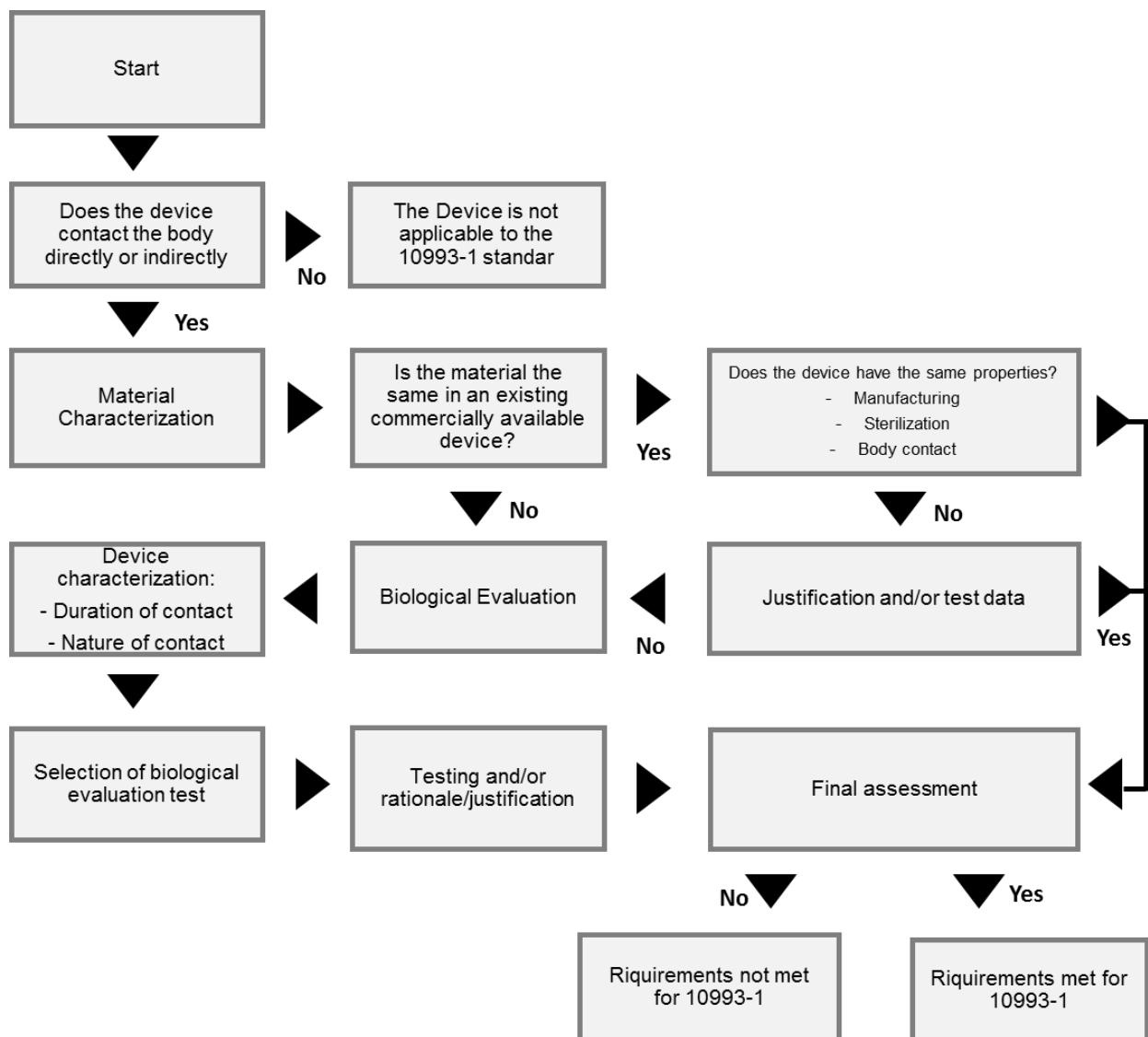


Figura 6 - Fluxograma de utilização da ISO 10993-1

Adaptado de: Regulatory Guidelines For Biocompatibility Safety Testing | MDDI Medical Device and Diagnostic Industry News Products and Suppliers. 1997

4.4.2 Testes de citotoxicidade

Existem três tipos de teste de citotoxicidade: contato direto; contato indireto e de extratos, sendo este o primeiro a ser realizado. O procedimento de contato direto é mais utilizado para materiais de baixa densidade, por exemplo, polímeros de lentes de contato. Neste caso, coloca-se uma amostra do material a ser testado diretamente sobre as células que crescem em meio de cultura, como se pode observar na Figura 7. As células são incubadas e posteriormente é observado o grau de malformação, degeneração ou lise das células à volta do material. (24,25)

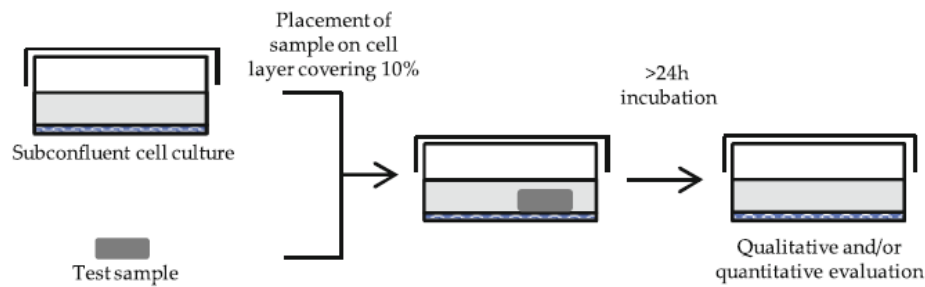
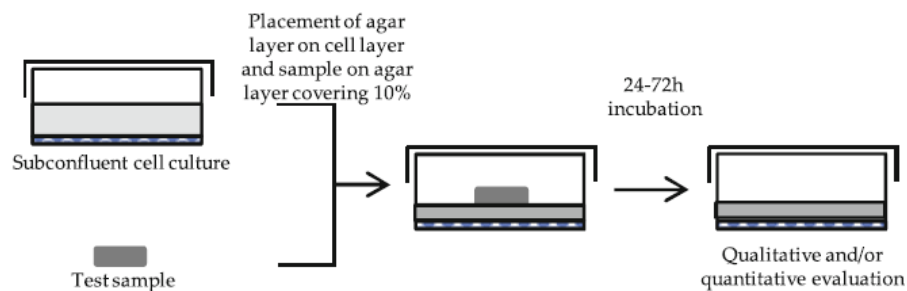


Figura 7 - Teste de contato direto

Fonte: Bruinink A, Luginbuehl R. Evaluation of Biocompatibility using *In Vitro* Methods: Interpretation and limitations.

O teste de contato indireto, também designado de difusão em agar é aplicado maioritariamente em materiais de alta densidade. Assim sendo, uma fina camada de agar suplementada com nutrientes é colocada sobre as células em cultura e o material de teste é colocado sob essa fina camada de agar (ou sob uma camada de papel de filtro), como se pode observar na Figura 8,. De seguida as células são incubadas e por fim avaliadas como no método direto. (25–27)

Indirect contact test: Agar diffusion test



Indirect contact test: Filter diffusion test

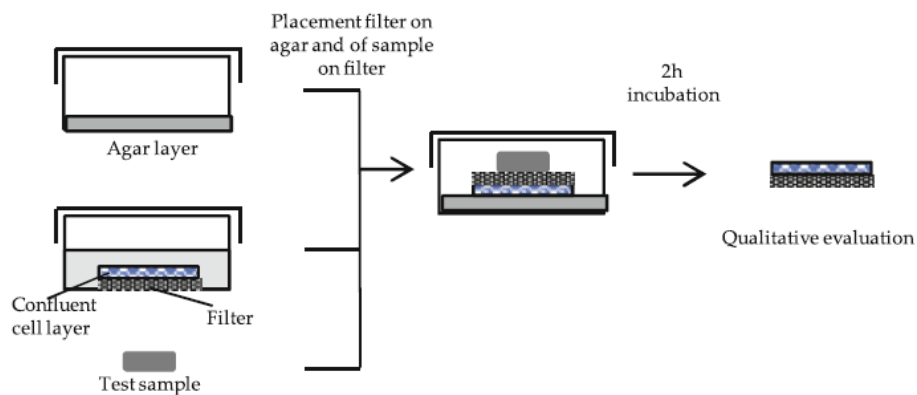


Figura 8 - Teste de contato indireto

Fonte: Bruinink A, Luginbuehl R. Evaluation of Biocompatibility using *In Vitro* Methods: Interpretation and limitations.

Antes de se realizar qualquer tipo de teste biológico, a análise e caracterização dos dispositivos inicia-se com a avaliação dos componentes do dispositivo, ou seja, com a realização do teste de eluição, de lixiviáveis ou de extratos. Este processo envolve a extração de materiais lixiviáveis à temperatura de 37°C, por ser semelhante à corporal, e com posterior análise desses mesmos materiais extraídos. Este ensaio, representado na Figura 9, utiliza diferentes meios e condições de extração de forma a que seja possível testar os dispositivos em condições bastante próximas das reais.

Após a preparação os extratos são transferidos para uma camada de células e incubados. Estas são depois observadas e avaliadas. (27)

Estes ensaios em culturas celulares são utilizados para avaliar a biocompatibilidade de um material e os seus lixiviáveis, o que se torna útil para avaliar o potencial de toxicidade ou irritação dos materiais envolvidos no fabrico do dispositivo. (27)

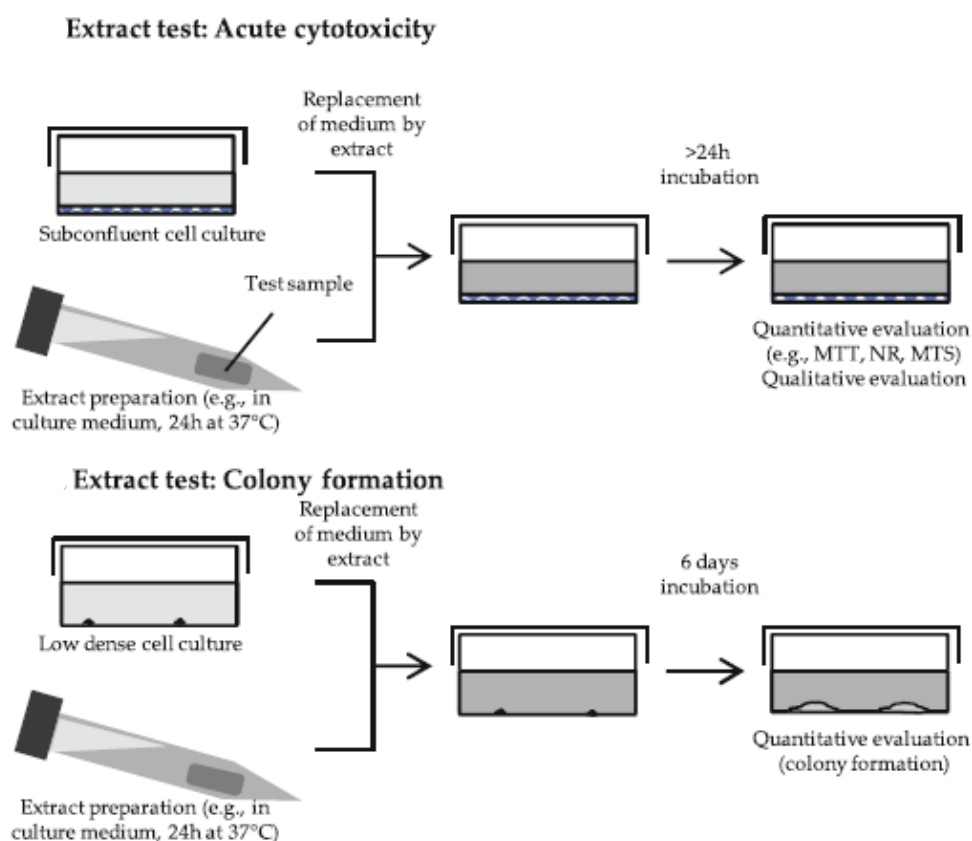


Figura 9 - Teste de extratos

Fonte: Bruinink A, Luginbuehl R. Evaluation of Biocompatibility using *In Vitro* Methods: Interpretation and limitations.

O MTT é um método colorimétrico que mede a redução do [brometo de 3-(4,5-dimetiliazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio], que apresenta cor amarela, pela enzima succinato desidrogenase da mitocôndria. Como esta redução só é catalisada por células vivas, é possível, quantificar a percentagem de células vivas numa solução através da coloração da cultura. (25)

4.4.3 Testes de sensibilização

No que diz respeito aos estudos de sensibilização, estes ajudam a determinar se um material contém determinados produtos químicos que causem efeitos adversos locais ou sistémicos após exposição repetida ou prolongada. Estas reações alérgicas ou de hipersensibilidade envolvem mecanismos imunológicos. (24,26)

Esta avaliação pode realizar-se através do teste de maximização da cobaia, também designado de *Magnusson-Kligman*, que é recomendado para dispositivos que entrem em contato interno com o corpo ou fluidos corporais. Neste estudo o material de teste é misturado com adjuvante de *Freud* (CFA) para aumentar a resposta de sensibilização da pele. (24,26)

Existe também o teste de Patch fechado que envolve múltiplas aplicações tópicas e é recomendado para dispositivos que estarão em contato apenas com a pele. (24,26)

Por fim, existe ainda o ensaio LLNA (*Local Lymph Node Assay*) que determina o aumento quantitativo de linfócitos em resposta a um sensibilizador. Se determinada molécula desencadear uma resposta de sensibilização na pele esta irá induzir as células de langerhans epidérmicas a transportar o alérgeno para gânglios linfáticos drenantes o que vai levar a uma diferenciação e proliferação dos linfócitos T. Do ponto de vista do bem-estar animal este é o teste de sensibilização preferível. (24,26)

4.4.4 Testes de irritação/reativação intracutânea

Estes testes avaliam o potencial de irritação local de dispositivos em locais como pele ou mucosas utilizando, geralmente, um modelo animal. A via de administração e a duração de contato devem ser análogas ao uso clínico previsto para o dispositivo. Habitualmente exagera-se as condições de exposição para estabelecer uma margem de segurança para os pacientes. (19,26)

Na realização destes testes administra-se a amostra teste por via intracutânea em cinco locais diferentes de pele. É também injetado de forma semelhante um veículo controlo noutros cinco locais adjacentes. A aparência das diferentes zonas é comparada ao longo de um período de 72 horas. (19,26)

5 Discussão – Apresentação de casos práticos

O tema dispositivos médicos tem conceitos teóricos associados muito densos como é o caso do fator biocompatibilidade. Todas estas definições e normas têm vindo a ser explicadas e descritas ao longo da presente monografia.

Neste capítulo serão descritos alguns exemplos práticos onde se discute a aplicação da teoria anteriormente explanada à realidade da escolha de um material e do fabrico de um dispositivo médico.

5.1 *Metallic Glasses* (MGs)

Um tipo de biomaterial muito utilizado, principalmente a nível de implantes dentários e ósseos, são os metais. Estes podem ser considerados biomateriais com boas características devido às suas propriedades mecânicas e à facilidade com que podem ser moldados. (8,28)

Apesar destes benefícios existe uma grande desvantagem associada à utilização destes materiais. Devido à corrosão associada ao elevado desgaste e à frequente libertação de iões, que podem ser tóxicos para o organismo humano, estes não podem ser considerados um dos melhores exemplos de biofuncionalidade. Para melhorar esta característica é necessário que ocorra a modificação da sua superfície visto que, durante os processos de fabrico dos mesmos, como fusão, tratamento térmico, entre outros, não é possível. A modificação de superfície é um procedimento que altera a composição, a estrutura e a morfologia da superfície do material, não alterando as suas propriedades mecânicas. (8,29,30)

Embora existam algumas desvantagens associadas, que como foi referido podem ser contornadas, os materiais metálicos ainda são bastante utilizados e continuamente estudados. (28,29)

Atualmente, os metais mais utilizados são o aço inoxidável e as ligas metálicas. Nestas ligas um dos metais mais utilizados é o titânio (Ti) por ser um metal leve, com elevada resistência à corrosão e elevada biocompatibilidade. (9) No entanto, por serem de metais puros, estas apresentam baixa dureza, sendo menos resistentes à corrosão, o que pode levar à libertação de iões tóxicos. (8,31)

Contrariamente à grande maioria destas ligas, que apresentam uma estrutura cristalina organizada, um novo tipo de material com estrutura amorfa, está a surgir, os vidros metálicos (*Metallic Glasses* – MGs). Para além da sua estrutura não

organizada, estes apresentam propriedades especiais e uma microestrutura, sendo estes os motivos que levaram ao aumento da sua popularidade. A estrutura destes materiais, por não ser cristalina, pode oferecer maior resistência à corrosão e ao desgaste, devido à sua elevada dureza. Daí que sejam uma promessa de um material com uma excelente biocompatibilidade, o que os torna ótimos candidatos para a aplicação em dispositivos médicos. (31)

Apesar da elevada dureza destes MGs existe uma enorme libertação de iões por parte de materiais metálicos em ambientes fisiológicos, sendo por isso importante controlar a presença de certos iões tóxicos, como por exemplo o Cobre (Cu). Contudo este metal está muitas vezes presente em vários MGs por conseguir melhorar a capacidade de formação de vidro uma vez que apresenta um reduzido tamanho atómico, diminuindo a temperatura necessária à formação do respetivo vidro metálico. (31)

Por estas razões foram realizados testes *in vitro* e *in vivo* de três MGs diferentes: $\text{Ti}_{45}\text{Zr}_{40}\text{Si}_{15}$, sem Cu; o $\text{Ti}_{40}\text{Zr}_{40}\text{Si}_{15}\text{Cu}_5$, com uma quantidade reduzida de Cu; $\text{Ti}_{45}\text{Zr}_{20}\text{Cu}_{35}$ com elevada quantidade de Cu. (28)

Para testar a viabilidade e biocompatibilidade destes vidros metálicos foram realizados testes *in vitro* de citotoxicidade, bioquímicos e posteriormente testes de implantação *in vivo*, de forma a avaliar a biossegurança e biofuncionalidade destes materiais. A esquemática dos testes realizados encontra-se ilustrada na Figura 10. (31)

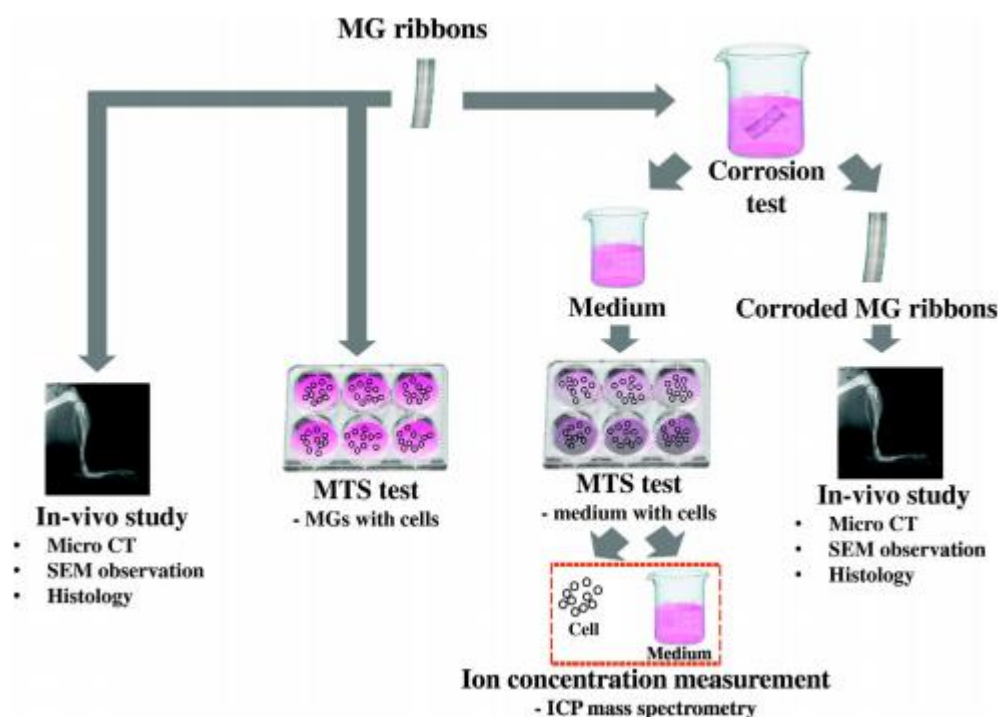


Figura 10 - Esquema experimental de testes de citotoxicidade e *in vivo*

Fonte: Lin CH, Chen CH, Huang YS, Huang CH, Huang JC, Jang JSC, et al. In-vivo investigations and cytotoxicity tests on Ti/Zr-based metallic glasses with various Cu contents. Mater Sci Eng C

5.1.1 Teste de viabilidade celular

Na realização deste teste, para avaliar os três MGs em estudo, foram utilizadas células estaminais da medula óssea de rato, células D1. Para além dos vidros metálicos foi também utilizado o Ti puro como controlo. (31)

Estas células foram incubadas com os MGs no meio de cultura DMEM durante 72 horas. Paralelamente foram também incubadas, durante 24 horas, com o meio resultante do teste de corrosão dos MGs (também designado de teste de extratos ou lixiviáveis). Utilizou-se o ensaio de proliferação celular (MTS) para avaliar estes dois resultados. (31)

Em todos os testes, a concentração inicial de células D1 foi de 1×10^5 células/mL. A viabilidade destas foi quantificada através da medição da absorvância das mesmas a 490 nm. Para também quantificar a concentração de iões libertados no meio, após o teste de corrosão, e nas células D1, após o teste MTS, foi medida a concentração de iões, antes e depois destes ensaios, por espectrofotometria de massa. (31)

5.1.2 Testes *in vivo* - Implantação

Para a realização dos ensaios *in vivo*, responsáveis por avaliar a biofuncionalidade do material, foram utilizados ratos machos *Sprague-Dawley* de oito semanas e com 250-300g de peso. Os animais foram submetidos às condições padrão exigidas durante uma semana antes da implantação dos MGs. De seguida, foi feita uma cavidade de implante com um comprimento de aproximadamente 6,2mm e 1,5mm de largura com um bisturi na tíbia direita. (31)

Os Mg intactos e os resultantes dos testes de corrosão foram cortados em seções de cerca de 6mm×3mm×1,0-1,5mm e seguidamente implantados na medula óssea da tíbia proximal direita. Antes da implantação, estes foram imersos durante 3 minutos em álcool 75% para esterilização. (31)

Para a análise do tecido após o implante foram realizados raios-x e foi também analisada a proteína C-reativa de forma a caracterizar a inflamação. (31)

5.1.3 Testes de Histologia e *Scanning Electron Microscope* (SEM)

Após sacrifício dos animais a tíbia foi recuperada com respetiva cartilagem articular e fixada com formalina 10%. As TAC das tíbias com implantes de MG foram divididas ao meio para análise histológica e SEM. (31)

5.1.4 Resultados

A Figura 11 mostra os resultados deste primeiro teste de caracterização do material. Nela estão representados o módulo de *Young* – grandeza proporcional à rigidez de um material quando este é submetido a uma tensão externa, trata-se da razão entre a tensão aplicada e a deformação sofrida pelo corpo (32) - a dureza, o potencial de corrosão (E_{corr}) e o *Pitting Potential* (E_{pit}) – tipo de corrosão que ocorre de forma alveolar, em forma de poços (33) - dos MGs. (31)

As propriedades do tecido ósseo humano e do titânio também são apresentadas como termos de comparação. (31)

Parameter	Young's modulus (GPa)	Hardness (GPa)	$E_{corr}(V)$	$E_{pit}(V)$
Human bone	3–20	2.0–6.0	–	–
Pure Ti	115	2.5	-0.262 ± 0.008	>2.0
No-Cu Ti ₄₅ Zr ₄₀ Si ₁₅	89	6.4	-0.406 ± 0.012	0.834 ± 0.108
Low-Cu Ti ₄₀ Zr ₄₀ Si ₁₅ Cu ₅	83	7.0	-0.388 ± 0.092	0.712 ± 0.020
High-Cu Ti ₄₅ Zr ₂₀ Cu ₃₅	77	6.0	-0.259 ± 0.041	-0.078 ± 0.013

Figura 11 - Propriedades mecânicas e de corrosão dos MGs em estudo e respectivos padrões

Fonte: Lin CH, Chen CH, Huang YS, Huang CH, Huang JC, Jang JSC, et al. In-vivo investigations and cytotoxicity tests on Ti/Zr-based metallic glasses with various Cu contents. Mater Sci Eng C

A estrutura não cristalina dos MG vai tornar possível uma diminuição dos deslocamentos dos implantes que também levam a ocorrência de eventos adversos. Estes materiais apresentam maior dureza e um módulo de *Young* menor, o que favorece a formação de um produto de ‘espuma’ semelhante ao osso humano. (31)

O Ti, como já foi referido, é um dos materiais mais utilizados neste tipo de aplicações devido à qualidade das suas propriedades químicas e de biocompatibilidade. No entanto, como mostrado na Figura 11, o módulo de *Young* do Ti é de cerca de 115 GPa, bastante superior ao do osso humano, sendo a sua dureza de apenas 2.5 GPa, em comparação com 2-6.00 GPa do osso. O elevado módulo de *Young* e a baixa dureza do Ti podem desencadear problemas em aplicações devido à baixa resistência à fricção. (31)

Já os MGs em estudo exibiram um menor módulo de *Young* e uma dureza superior o que pode proporcionar uma maior biocompatibilidade. Assim, os MGs são propostas promissoras para a realização de próteses implantáveis visto que apresentam uma maior integridade e uma mecânica que resiste por um maior período de tempo. (31)

Contudo o sucesso destes dispositivos não passa só pela sua dureza e pelas suas propriedades físicas, a sua resistência à corrosão é bastante determinante nos processos de biocompatibilidade. (31)

O Ti é um metal estável, resistente a corrosão e sem um comportamento de corrosão alveolar. Através da Figura 11 pode observar-se que o E_{cor} do Ti é superior aos de MG, o que indica a suscetibilidade destes à corrosão. (31)

A capacidade de resistência de um material à corrosão não pode ser determinada com base somente no E_{cor} , os valores de E_{pit} são mais preocupantes. Através da Figura 11, podemos observar que ocorreu formação de alvéolos por corrosão em todos os MGs exceto no Ti. O MG sem Cu exibiu corrosão por alvéolos a um potencial de 0.834V, considera-se um valor aceitável tendo em conta que o próprio osso humano apresenta este tipo de corrosão em valores entre 0.7 e 0.8V o que indica os baixos riscos de corrosão associados à implantação destes materiais. O MG com elevada quantidade de Cu apresentou um valor negativo de E_{pit} o que indica que a corrosão e formação dos poços ocorre quase instantaneamente. (31)

No que diz respeito aos resultados dos ensaios MTS, que avaliaram a viabilidade celular, chegou-se à conclusão de que, na presença do MG com elevada quantidade de Cu, houve uma grande libertação de iões tóxicos que causaram a morte das células D1. Verificou-se também no teste com este MG, que a presença de iões era elevada no meio resultante do teste de corrosão e também no teste do contato direto com as células. Assim, pode concluir-se que a principal causa de morte das células D1 foi a libertação de iões cobre. No caso dos MGs com baixa ou sem concentração de cobre uma camada de óxido era formada na superfície do material inibindo a corrosão do MG. Contrariamente, no MG com elevada quantidade de Cu, verificou-se que, na presença destes átomos a oxidação e corrosão do material era aumentada. (31)

Após a realização destes ensaios foram realizados os testes *in vivo*. Os resultados mostraram um crescimento tecidular satisfatório à volta de todas as amostras implantadas após três, seis e doze semanas. Foi notada uma variação de densidade com os diferentes tipos de vidros metálicos, onde se verificou uma maior densidade óssea à volta do MG sem Cu. Quanto à presença de inflamações, estas não foram encontradas em nenhum dos testes, com nenhuma das amostras. Isto porque, apesar da libertação de iões Cu ser tóxica, a circulação de fluidos perto do local do implante foi capaz de remover esses iões. Contudo, serão necessários estudos adicionais para validar estes mecanismos responsáveis pelo efeito tóxico. (31)

As imagens histológicas não apresentaram sinais de necrose nem de reação inflamatória induzida a curto prazo pelos metais. Foram identificadas de forma significativa pequenas cavidades no tecido ósseo da tíbia implantado com o MG $Ti_{45}Zr_{20}Cu_{35}$. A partir desta observação pôde concluir-se que uma maior percentagem de Cu pode aumentar a atividade dos osteoclastos e, conseqüentemente, promover

uma destruição do tecido ósseo. Esta hipótese foi confirmada uma vez que com a utilização do MG $\text{Ti}_{45}\text{Zr}_{40}\text{Si}_{15}$ o tecido ósseo apresentava uma elevada densidade. (31)

Finalizando, com a realização de todos estes testes de avaliação do comportamento dos materiais *in vitro* e *in vivo* concluiu-se que o conteúdo em cobre tem um efeito significativo nas propriedades dos MGs. Foi também possível comprovar a excelente capacidade de resistência à corrosão e uma baixa citotoxicidade dos MGs com baixa concentração de cobre ou sem este. (31)

Resumindo, foi possível perceber-se que, a curto prazo, os três MGs apresentaram boas características de biocompatibilidade. Para uma exposição a longo prazo é necessário continuar o estudo e avaliar todas as situações, principalmente no MG com elevada concentração de cobre. (31)

Com a apresentação do estudo destes materiais metálicos foi possível perceber-se a importância destes testes experimentais e o porquê de serem exigidos antes do fabrico e da comercialização dos respetivos dispositivos médicos. Através deles consegue-se reunir informação importante que garante a segurança da utilização destes materiais, o que permite o fabrico do dispositivo.

5.2 Microesferas de Alginato-Ácido Hialurónico

Outra aplicação recente e muito estudada dos biomateriais, pela elevada necessidade e por todos os problemas que podem ser reduzidos e minimizados, é a engenharia de células e a utilização de micropartículas para libertação de células e fármacos no organismo humano.

Hoje em dia, existe um elevado número de doentes que necessitam de transplantes de órgãos, porém este procedimento é limitado pelo número de dadores, pelo custo e pelo risco de rejeição associado. Atualmente, o encapsulamento em hidrogéis tem ganho um enorme destaque nesta área, sendo este um processo que requer biomateriais com elevada biocompatibilidade. As células mantêm-se vivas dentro dos hidrogéis antes da sua libertação, mantendo a sua capacidade de secretar continuamente fatores de crescimento. Esta estrutura tem de ser um pouco porosa de forma a que o oxigénio e os nutrientes cheguem às células, sendo esta uma limitação da técnica. (34)

Os hidrogéis de alginato (ALG) têm demonstrado uma elevada biocompatibilidade. Não apresentaram toxicidade na forma de polímero ou em solução, tornando-os num potencial sistema de entrega de células. São por isso

adequados para a utilização em transplantes, sem que seja necessário a terapêutica habitual de imunossupressão. No entanto, este hidrogel apresenta algumas limitações como a necessidade de um tamanho adequado das micropartículas de alginato e a quantidade de células encapsuladas que é necessária para se obter a quantidade ideal de nutrientes. (34)

Um hidrogel que apresenta elevada biocompatibilidade é o ácido hialurónico (HA). Este material apresenta boas propriedades viscoelásticas, propriedades antioxidantes e não é imunogénico. Tem sido amplamente utilizado nestes processos de encapsulamento celular e, por exemplo a nível do rim saudável, apresentou uma distribuição heterogénea. (34)

A capacidade de distribuição do HA é outra das suas vantagens. Muitos hidrogéis têm sido utilizados neste tipo de células em vários órgãos diferentes. No entanto, devido à sua complexidade, o rim tem sido amplamente estudado, de forma a que seja possível encontrar um método para a regeneração deste órgão sem que ocorram complicações após o procedimento e de forma a manter a funcionalidade natural do rim. (34)

Desta forma, o objetivo do estudo foi avaliar a biocompatibilidade *in vitro* e *in vivo* das microesferas de ALG e ALG-HA para que fosse possível projetar um sistema que permitisse a libertação celular lenta, protegendo as células do sistema imunológico do organismo. Assim, estas podiam ser libertadas das microesferas de lentamente até proliferarem, sem despoletar uma reação imunológica. (34)

Para a realização dos ensaios foram utilizadas células estaminais da medula óssea de ratos (RBMSCs). (34)

5.2.1 Teste de libertação celular

Para testar a hipótese de que, através da degradação controlada de microesferas de alginato, é possível alcançar-se uma libertação lenta de células, as RBMSC foram encapsuladas em ALG e ALG-HA (ácido alginato-hialurónico). (34)

Para além de se avaliar esta libertação celular controlada, testou-se também a hipótese da libertação de fatores de crescimento pelas células RBMSC encapsuladas em ALG-HA. (34)

Assim, iniciaram-se os ensaios pela verificação da libertação do conteúdo das microesferas em ambos os hidrogéis onde se concluiu que, com a adição do ácido hialurónico ao alginato a libertação celular iniciou-se mais rapidamente. (34)

Após 7 dias, as microesferas começaram a libertar lentamente pequenas quantidades de células, sendo que dos 7 aos 21 dias esta quantidade aumentou consideravelmente. De forma geral, três semanas após o encapsulamento a disseminação celular foi elevada e facilmente observada, o que mostra que a encapsulação de células em microesferas de ALG-HA é um método promissor de entrega de células para aplicação na engenharia de tecidos. (34)

5.2.2 Teste de viabilidade celular

Através do teste MTT foi avaliada a viabilidade das células nas microesferas e após a libertação destas, de acordo com a ISO 10993-5. Foram recolhidas amostras de microesferas de ALG e ALG-HA a 1, 5, 7 e 14 dias após o encapsulamento e mantidas a temperaturas de 37°. Após a incubação adicionou-se a solução de MTT e as placas foram novamente incubadas durante 4 horas. De seguida, foi determinada a absorvância da solução obtida. (34)

Através destes ensaios, demonstrou-se que as células RBMSC, encapsuladas nas microesferas de ALG e ALG-HA permaneceram viáveis durante o período de cultura. No entanto, as microesferas de ALG não apresentaram uma degradação tão visível quando comparadas com as microesferas de ALG-HA. (34)

5.2.3 Testes *in vivo* - Implantação

As microesferas de ALG-HA foram implantadas sob a cápsula do rim do rato por injeção com uma solução salina. Aos 7 e 14 dias os resíduos foram extraídos e corados. A área abaixo do local do implante foi examinada histologicamente. (34)

Verificou-se que, 7 dias após o procedimento, as microesferas de ALG-HA apresentavam um tamanho maior, tendo este diminuído até aos 14 dias após a intervenção. Foi também avaliada a reação inflamatória através de métodos colorimétricos onde foi possível observar-se que, aos 14 dias, a resposta ao corpo estranho (FBR) tinha também diminuído. Nos tecidos adjacentes não foi observada uma resposta inflamatória o que também comprova a elevada biocompatibilidade destas microesferas com o tecido renal. (34)

Apesar de todas estas evidências são necessários mais estudos *in vivo* que comprovem a capacidade das microesferas de ALG-HA conseguirem proteger as células e controlarem a libertação das mesmas ao longo do tempo, sem que seja

despoletada nenhuma resposta inflamatória. Futuramente teriam de se criar modelos animais portadores de doença renal aguda e crônica para que fosse possível tentar regenerar o seu tecido renal através de células estaminais e da distribuição de fatores de crescimento utilizando as microesferas de ALG-HÁ como veículo de entrega. (34)

5.2.4 Resultados

Resumindo, os resultados obtidos comprovaram a liberação celular a partir das microesferas de ALG-HA a partir dos 7 dias, sendo que estas apresentaram maior viabilidade celular que as libertadas das microesferas de ALG. (34)

Devido à sua estabilidade, também se conclui que as esferas de ALG-HA podem ser utilizadas para entrega de células mas também para processos de entrega a longo prazo. A biocompatibilidade *in vivo* destas partículas, observada através da avaliação da FBR, mostrou resultados muito promissores. Este é um sistema que pode vir a ser muito utilizado para o transporte de células e fármacos, alterando o revestimento de forma a alcançar a liberação desejada. (34)

6 Perspetivas futuras

Uma das novas aplicações dos biomateriais, com enormes vantagens associadas, é a reparação de tecidos e é este novo conceito que leva a uma das limitações de biocompatibilidade. Esta característica é, sem dúvida, necessária e um dos requisitos básicos de um biomaterial, contudo a presente definição de biocompatibilidade não explica, nem consegue suportar este novo fenómeno de reparação de tecidos. Estas limitações foram descobertas com o passar do tempo e a evolução da imunologia e biologia. (18,35)

Tendo em conta que a avaliação de biocompatibilidade se faz, geralmente, com base em um só tipo de células, outro tipo de limitações também pode ser desencadeado. Um exemplo claro são os dispositivos médicos que utilizam a hidroxiapatite. Estas partículas apresentam uma elevada biocompatibilidade uma vez que conseguem promover a proliferação de proteínas envolvidas na expressão génica de osteoblastos. No entanto, existem várias células em cada tecido ou órgão. No caso do osso, estão presentes osteoblastos mas também osteoclastos, células imunológicas, entre outras. Desta forma, avaliar a viabilidade da hidroxiapatite na reparação óssea medindo somente as propriedades biológicas dos osteoblastos não é o mais correto. (35)

Outro exemplo de limitação desta definição são os implantes de metal, de PLGA, ou silicones. A maioria destes materiais tem a limitação de não se degradar e, com o passar dos anos, o stress do microambiente do local do implante pode levar ao enfraquecimento do mesmo, como já explicado nos exemplos anteriores. (35)

Com estes fatos pode chegar-se à conclusão de que é necessário um sistema mais sistemático para avaliar a biocompatibilidade e viabilidade dos materiais na reparação de tecidos, sendo esta uma nova realidade a ser explorada. (35,36)

É assim que surge a bioadaptabilidade dos biomateriais. Este conceito enfatiza as características do material e os aspetos biológicos dentro de cada micro-ambiente, referindo também os mecanismos moleculares envolvidos. O objetivo da bioadaptabilidade é descobrir a interação entre os biomateriais e os tecidos de forma a que, novas ideias de utilização destes materiais surjam, e a que se entenda qual o processo envolvido na reparação de tecidos. Assim, pode dizer-se que a conceção de biomateriais com estas características de bioadaptabilidade abriria uma porta para a reparação de órgãos e tecidos.(35)

O conceito de bioadaptabilidade de biomateriais sugere que o microambiente criado pelos biomateriais tem de se adaptar ao local do tecido a ser reparado; que os biomateriais devem ter propriedades mecânicas compatíveis com o tecido afetado e que devem suportar a sua estabilidade durante o processo de reparação tecidual; e que os biomateriais devem possuir biodegradabilidade adaptável, de acordo com o novo tecido. Comparando com biocompatibilidade, a bioadaptabilidade exige que os biomateriais sejam não só seguros mas também *biofriendly* e biomiméticos. (35)

Este novo conceito é, por estas razões, uma inspiração para descobrir e melhor compreender o mecanismo de interação entre os biomateriais e os tecidos, de forma a promover funções de biomateriais inéditas e de avaliar as principais dificuldades no processo de reparação de tecidos. A concepção de biomaterias com esta característica abriria uma nova porta na reparação e regeneração de tecidos ou órgãos, sendo este o futuro mais desejado na temática de biocompatibilidade e biomateriais, tendo em conta a sua necessidade e o número de problemas, até agora sem solução, que seriam resolvidos. (35)

7 Conclusão

Biocompatibilidade é um conceito que se relaciona com as reações decorrentes do contato de um dispositivo médico com o organismo humano, que é necessário para o desempenho da sua função, sendo por isto uma característica essencial num biomaterial.

Inicialmente era definida como a capacidade dos materiais não despoletarem reações adversas no organismo. Com a evolução da ciência e tecnologia começou a entender-se com maior clareza quais os processos que ocorrem durante a interação entre os biomateriais e os órgãos ou tecidos, o que levou a alterações no conceito, as quais foram acompanhando estes avanços. Foi então possível perceber-se que biocompatibilidade não envolvia só biossegurança, ou seja, não passava apenas pela capacidade de não desencadear reações adversas. Duas características tornaram-se intrínsecas a esta definição: biossegurança e biofuncionalidade. Desta forma, um biomaterial só é considerado biocompatível caso seja capaz de desempenhar a sua função sem que ocorra uma reação adversa local ou sistêmica.

Este conceito esteve sempre associado a muitas incertezas por muitas vezes não se entenderem todos os seus limites e fronteiras e maioritariamente por, até hoje, não se conhecer com clareza todos os mecanismos que ocorrem durante a interação entre os biomateriais e o órgão ou tecido.

Estas ambiguidades ainda estão presentes. Com o desenvolvimento de novas aplicações de biomateriais, a definição de biocompatibilidade começa a apresentar algumas limitações. O aparecimento de técnicas como a engenharia e reparação de tecidos começa a não ser suportado pelo seu significado atual.

É necessário continuar a entender quais os mecanismos envolvidos entre os biomateriais e os microambientes locais para que não ocorra uma estagnação do conceito. Assim, perspetivas futuras passam por aumentar ainda mais a compreensão destes processos e por estabelecer uma forma mais sistemática de se avaliar e determinar a biocompatibilidade de um biomaterial.

A nova realidade de bioadaptabilidade é um caminho a explorar para alcançar estes objetivos. A compreensão deste conceito pode abrir portas para a realidade da reparação de tecidos, o futuro mais desejado nesta temática de biomateriais e biocompatibilidade.

Todo este tema envolvente demonstra inúmeras potencialidades que podem vir a ser essenciais para a resolução de problemas de saúde até agora sem solução.

Assim, é compreensível que a indústria do medicamento, em comparação com a dos dispositivos médicos não esteja em evolução, uma vez que o futuro das áreas de saúde pode passar por esta realidade, no que diz respeito à resolução de certas questões que até agora se apresentam como não resolvidas ou não solucionadas, recorrendo à aplicação destas novas técnicas.

8 Referências Bibliográficas

1. Dispositivos Médicos - INFARMED, I.P. [Internet]. [cited 2017 Mar 15]. Available from: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/perguntas-frequentes-area-transversal/dm>
2. Freitas ASB. Dispositivos Médicos: Enquadramento Regulamentar e Documentação Técnica [Internet]. 2014 [cited 2017 Mar 21]. Available from: http://www.ordemfarmaceuticos.pt/xFiles/scContentDeployer_pt/docs/Docs337.pdf
3. Neves MJ. Dispositivos Médicos: O Infarmed e a Legislação [Internet]. 2010 [cited 2017 Mar 22]. Available from: http://www.chporto.pt/pdf/downloads/Dispositivos_Medicos-Infarmed_e_a_legislacao_Dra_Judite_Neves.pdfhttp://www.chporto.pt/pdf/downloads/Dispositivos_Medicos-Infarmed_e_a_legislacao_Dra_Judite_Neves.pdf
4. Cardoso S. Classificação e Processo Regulamentar de Dispositivos Médicos nos ensaios Intervencionais [Internet]. [cited 2017 Mar 20]. Available from: http://www.ptcrin.pt/files/pages/164_2.pdf
5. Pires ALR, Bierhalz ACK, Moraes ÂM, Pires ALR, Bierhalz ACK, Moraes ÂM. Biomaterials: Types, applications, and market. Quim Nova. 2015;38(7):957–71.
6. Lemons JE, Schoen FJ, Hoffman AS, Ratner BD. Biomaterials Science: An introduction to materials in medicine. Academic P. London; 1996.
7. Park JB, Lakes RS. Biomaterials : An introduction. Third. New York: Springer; 2007. 561 p.
8. Manam NS, Harun WSW, Shri DNA, Ghani SAC, Kurniawan T, Ismail MH, et al. Study of corrosion in biocompatible metals for implants: A review. J Alloys Compd. 2017;701:698–715.
9. Helmus MN, Gibbons DF, Cebon D. Biocompatibility: Meeting a Key Functional Requirement of Next-Generation Medical Devices. Toxicol Pathol. 2008;36(1):70–80.
10. Bhat SV. Biomaterials. First. New Delhi: Kluwer Academic Publishers; 2002.
11. Bandyopadhyay A, Bose S. Characterization of biomaterials. Elsevier. Massachusetts; 2013. 437 p.
12. Glocker DA, Technologies D. Part 1 Historical Perspectives on Biomedical

- Coatings in Medical Devices. 2016;1:2–25.
13. Williams DF. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*. 2008;29(20):2941–53.
 14. Williams DF. On the nature of biomaterials. *Biomaterials*. 2009;30(30):5897–909.
 15. Badylak SF. Host response to biomaterials: the impact of host response on biomaterial selection. London; 2015.
 16. Ramot Y, Haim-Zada M, Domb AJ, Nyska A. Biocompatibility and safety of PLA and its copolymers. *Adv Drug Deliv Rev*. 2016;107:153–62.
 17. Boutrand J-P. Biocompatibility and performance of medical devices. Woodhead Pub; 2012. 518 p.
 18. Anderson JM. Future challenges in the in vitro and in vivo evaluation of biomaterial biocompatibility. *Regen Biomater*. 2016;3(2):73–7.
 19. Anderson JM. Biological responses to materials. 2001;81–110.
 20. Anderson JM, Langone JJ. Issues and perspectives on the biocompatibility and immunotoxicity evaluation of implanted controlled release systems. *J Control Release*. 1999;57(2):107–13.
 21. Onuki Y, Bhardwaj U, Papadimitrakopoulos F, Burgess DJ. A review of the biocompatibility of implantable devices: current challenges to overcome foreign body response. *J Diabetes Sci Technol* [Internet]. 2008;2(6):1003–15. Available from:
[http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2769826&tool=pmc
entrez&rendertype=abstract](http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2769826&tool=pmc_entrez&rendertype=abstract)
 22. Regulatory Guidelines For Biocompatibility Safety Testing | MDDI Medical Device and Diagnostic Industry News Products and Suppliers [Internet]. 1997 [cited 2017 May 14]. Available from:
[http://www.mddionline.com/article/regulatory-guidelines-biocompatibility-
safety-testing](http://www.mddionline.com/article/regulatory-guidelines-biocompatibility-safety-testing)
 23. ISO 10993-1:2009; Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing within a risk management process [Internet]. 2009 [cited 2017 May 22]. Available from: [https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:10993:-
1:ed-4:v1:en](https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:10993:-1:ed-4:v1:en)
 24. Goode J. Use of International Standard ISO 10993-1, “Biological evaluation of

- medical devices - Part 1: Evaluation and testing within a risk management process.” Dep Heal Hum Serv Food Drug Adm. 2016;68.
25. Bruinink A, Luginbuehl R. Evaluation of Biocompatibility using In Vitro Methods: Interpretation and limitations. *Adv Biochem Eng Biotechnol.* 2011;123(July 2015):127–41.
 26. Desai LS, Lister L. Biocompatibility Safety Assessment of Medical Devices : FDA / ISO and Japanese Guidelines. Toxikon Corp (Bedford, MA, USA). 2003;36(36):1–19.
 27. Biocompatibility Testing ; ISO 10993 Tests.
 28. Li TH, Wong PC, Chang SF, Tsai PH, Jang JSC, Huang JC. Biocompatibility study on Ni-free Ti-based and Zr-based bulk metallic glasses. *Mater Sci Eng C.* 2017 Jun;75:1–6.
 29. Asri RIM, Harun WSW, Samykano M, Lah NAC, Ghani SAC, Tarlochan F, et al. Corrosion and surface modification on biocompatible metals: A review. *Mater Sci Eng C.* 2017 Aug;77:1261–74.
 30. Hanawa T. Research and development of metals for medical devices based on clinical needs. *Sci Technol Adv Mater.* 2012 Dec 13;(6):64102.
 31. Lin CH, Chen CH, Huang YS, Huang CH, Huang JC, Jang JSC, et al. In-vivo investigations and cytotoxicity tests on Ti/Zr-based metallic glasses with various Cu contents. *Mater Sci Eng C.* 2017;77:308–17.
 32. Cossolino LC, Pereira AHA. Módulos elásticos: visão geral e métodos de caracterização. 2010.
 33. Frankel GS. Pitting Corrosion of Metals. *J Electrochem Soc.* 1998 Jun 1;145(6):2186.
 34. Amirian J, Van TTT, Bae S-H, Jung H-I, Choi H-J, Cho H-D, et al. Examination of In Vitro and In Vivo Biocompatibility of Alginate-Hyaluronic Acid Microbeads As a Promising Method in Cell delivery for Kidney Regeneration. *Int J Biol Macromol.* 2017;17–9.
 35. Wang Y. Bioadaptability: An Innovative Concept for Biomaterials. *J Mater Sci Technol.* 2016;32(9):801–9.
 36. Schmalz G, Galler KM. Biocompatibility of biomaterials - Lessons learned and considerations for the design of novel materials. *Dent Mater.* 2017;33(4):382–93.

